

# 猪传染性胸膜肺炎放线杆菌氨基糖苷类 抗生素耐药基因的检测

李海利<sup>1</sup>, 冯丽丽<sup>2</sup>, 王英华<sup>3</sup>, 徐引弟<sup>1</sup>, 张青娴<sup>1</sup>, 王治方<sup>1</sup>, 朱文豪<sup>1</sup>, 许峰<sup>1</sup>, 游一<sup>1</sup>, 王克领<sup>1</sup>  
(1. 河南省农业科学院畜牧兽医研究所, 河南郑州 450002; 2. 河南省农业科学院农业经济与信息研究所, 河南郑州 450002; 3. 河南省动物疫病预防控制中心, 河南郑州 450008)

**摘要:** 为研究河南省及临近周边地区的规模化猪场猪传染性胸膜肺炎(Porcine contagious pleuropneumonia)放线杆菌(*Actinobacillus pleuropneumoniae*, APP)氨基糖苷类抗生素药物的耐药情况, 调查了河南省及周边地区 56 个规模化猪场, 对猪的肺脏和气管中分离鉴定的 85 株 APP 进行了研究。血清型鉴定结果显示, 分离菌株为 1、3、7、8、9、10、12、15 型 APP, 采用纸片扩散法对分离株进行了耐药表型鉴定和采用 PCR 方法对氨基糖苷类抗生素药物耐药基因(*aac3-IV*、*aac3-IIc*、*ant2-Ia*)进行了检测。药敏试验结果显示, APP 对氨基糖苷类抗生素药物耐药基因(*aac3-IIc*)和(*aac3-IV*)的耐药率分别为 57.6%(49/85)、81.2%(69/85); 未检测出 *ant2-Ia* 耐药基因。

**关键词:** 猪; 胸膜肺炎放线杆菌; 血清定型; 氨基糖苷类抗生素; 耐药表型; 耐药基因  
**中图分类号:** S855 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2020)11-0141-06

## Detection of Aminoglycoside Antibiotic Resistance Genes in Pig Infectious Porcine Contagious Pleuropneumonia *Actinobacillus pleuropneumoniae* Isolated from Pigs

LI Haili<sup>1</sup>, FENG Lili<sup>2</sup>, WANG Yinghua<sup>3</sup>, XU Yindi<sup>1</sup>, ZHANG Qingxian<sup>1</sup>, WANG Zhifang<sup>1</sup>,  
ZHU Wenhao<sup>1</sup>, XU Feng<sup>1</sup>, YOU Yi<sup>1</sup>, WANG Keling<sup>1</sup>

(1. Animal Husbandry and Veterinary Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;  
2. Institute of Agricultural Economics and Information, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;  
3. Henan Provincial Center for Animal Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450008, China)

**Abstract:** In order to study the aminoglycoside antibiotic resistance of pig infectious porcine contagious pleuropneumonia *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) in Henan Province and neighboring regions in the scale of swine. A drug sensitivity test was carried out in 85 APP strains isolated from lung and trachea pigs in 56 large scale pig farms in Henan Province. The serotype identification results showed that isolates were 1, 3, 7, 8, 9, 10, 12, 15. Antimicrobial susceptibility disk method were used for resistant phenotype identification. At the same time, the PCR method for detection of aminoglycoside antibiotic resistance genes (*ant2-Ia*, *aac3-IIc* and *aac3-IV*). The drug resistance rates of APP to aminoglycoside antibiotic drug resistance genes (*aac3-IIc*) and (*aac3-IV*) were 57.6% (49/85) and 81.2% (69/85), respectively. The *ant2-Ia* resistance genes were not detected.

**Key words:** Swine; *Actinobacillus pleuropneumoniae*; Serum stereotyping; Aminoglycoside antibiotic; Drug resistance phenotype; Resistant gene

收稿日期: 2020-04-11

基金项目: 河南省科技攻关(国际科技合作)项目(182102410038)

作者简介: 李海利(1982-), 男, 河南开封人, 副研究员, 博士, 主要从事动物疫病临床诊断及防控研究。

E-mail: haili8693@sina.com

猪传染性胸膜肺炎 (Porcine contagious pleuropneumonia) 是由胸膜肺炎放线杆菌 (*Actinobacillus pleuropneumoniae*, APP) 引起的猪呼吸系统的一种严重的接触性传染性疾病<sup>[1-2]</sup>。急性者病死率高,慢性者常能耐过。猪感染 APP 后很容易继发其他细菌性或病毒性疾病,导致生长缓慢,饲料利用率低,降低饲料报酬<sup>[3]</sup>。自 1957 年首次报道猪胸膜肺炎以来,各个国家陆续发生和流行<sup>[4]</sup>。目前,该病已在世界各地广泛流行,一直呈现增长趋势,严重威胁着各个国家养猪业的发展<sup>[5-6]</sup>。

发生该病时常应用抗生素进行治疗,虽能挽回损失和降低死亡率,但是经过抗生素治疗的猪成为带菌猪,给其他健康猪造成了严重威胁,成为其他猪的传染源<sup>[7]</sup>;另外抗生素的频繁应用经常会导致出现耐药菌株,使抗生素治疗成为一个长期难以解决的问题,给细菌病的防治带来了挑战<sup>[8]</sup>。

小诺霉素、大观霉素、庆大霉素和卡那霉素等抗生素是氨基糖苷类临床常用的抗生素药物。细菌对这类药物产生耐药的机制是其产生了对抗生素进行修饰的钝化酶-氨基糖苷类修饰酶 (AMEs)。AMEs 主要有核苷转移酶 (Aminoglycoside nucleotidyl transferases, ANT) 和氨基糖苷乙酰转移酶 (Aminoglycoside acetyltransferases, AAC) 等<sup>[9-10]</sup>。这 2 种酶编码 3 个耐药基因,分别为 *aac3-IV*、*aac3-IIc* 和 *ant2-Ia*。临床中主要是通过通过对这 3 个基因的检测来评价和反映氨基糖苷类药物的耐药情况<sup>[11]</sup>。

目前,国内外有关 APP 对氨基糖苷类耐药基因的研究报道较少,国内 APP 氨基糖苷类耐药现状和耐药流行分子特征也不清楚。鉴于此,调查河南省及周边地区 APP 对氨基糖苷类抗生素的耐药情况,对从临床病例中分离鉴定出的 85 株 APP 进行药物敏感试验及耐药基因的扩增,旨在为临床用药和新药研制提供参考,为控制 APP 耐药菌株的产生和传播提供有力的手段。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株

临床分离鉴定的 85 株 APP 菌株, -80 °C 保存。

### 1.2 培养基及试剂

牛心浸汁 PPLO (含 5% 马血清和 100 μg/mL NAD)、*Taq* 酶等购自青岛海博生物技术有限公司。

### 1.3 APP 生化试验及血清定型鉴定

1.3.1 菌株 将分离鉴定的 85 株 APP 接种于牛心浸汁 PPLO (含 5% 马血清和 100 μg/mL NAD) 置

于 37 °C 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h, 挑取单菌落进行下一步试验。

1.3.2 APP 生化试验鉴定 取纯培养的单菌落接种于各种细菌生化培养管, 观察反应结果。

1.3.3 细菌血清型定型鉴定 取纯化培养的细菌, 制备适宜浓度的细菌菌悬液, 与标准阳性血清不同血清型 APP (购自中国兽医药品监察所), 进行凝集试验, 观察凝集现象, 确定分离菌的血清型。

### 1.4 药敏试验

采用纸片法进行氨基糖苷类药物药敏试验, 根据抑菌圈大小判定耐药、中等耐药或者敏感。

### 1.5 基因组提取及耐药基因检测

1.5.1 细菌基因组 DNA 的提取 将每株细菌在牛心浸汁 PPLO (含 5% 马血清和 100 μg/mL NAD) 琼脂平板上培养, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 37 °C 培养 24 ~ 72 h。收集细菌, 提取 DNA。

#### 1.5.2 耐药基因的 PCR 检测

1.5.2.1 引物合成与设计 设计了 3 对特异性较好的引物, *ant2-Ia-F*: 5'-TGTACAGTCTATGCTCTCG-3', *ant2-Ia-R*: 5'-CAAGACCTCAACCTTTTC-3', 预期扩增片段 635 bp; *aac3-IIc-F*: 5'-TCGGTTGGATGACAAAGC-3', *aac3-IIc-R*: 5'-TCTCAAGATAGGTGACGC-3', 预期扩增片段 572 bp; *aac3-IV-F*: 5'-TCGTGCAATACGAATGGC-3', *aac3-IV-R*: 5'-CAACGTCATCTCGTTCTC-3', 预期扩增片段 809 bp。上述引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.5.2.2 耐药基因的检测 PCR 反应体系: 体系为 50 μL, dNTP (0.15 mmol/L) 1 μL, *Taq* 酶 (0.04 U/μL) 0.5 μL, 引物 (10 μmol/L) 1 μL, Mg<sup>2+</sup> (2.0 mmol/L) 0.5 μL, Mix 25 μL, ddH<sub>2</sub>O 22 μL。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 2.5 min; 95 °C 变性 55 s, 55 °C 退火 37 s, 72 °C 延伸 3.5 min, 31 个循环; 最后 72 °C 延伸 4.5 min。

1.5.2.3 扩增产物的检测及测序 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 然后进行回收、测序。

## 2 结果与分析

### 2.1 APP 生化试验及血清定型鉴定

APP 生化特性见表 1。乳糖、果糖、葡萄糖、硝酸盐还原试验、过氧化氢酶、氧化酶、尿素酶和血浆凝固酶试验均为阳性, 甘露醇、山梨醇、鼠李糖、甘露糖、靛青质、甲基红、V-P、柠檬酸盐和卵磷脂酶试验均为阴性。

表 1 APP 生化鉴定结果

Tab. 1 Bacterial biochemical identification results

项目 Item	结果 Result
乳糖 Lactose	+
果糖 Fructose	+
葡萄糖 Glucose	+
甘露醇 Mannitol	-
山梨醇 Sorbitol	-
鼠李糖 Rhamnose	-
甘露糖 Mannose	-
靛青质 Indigo mass	-
甲基红 Methyl red	-
V-P	-
柠檬酸盐 Citrate	-
硝酸盐还原 Nitrate reduction	+
卵磷脂酶 Lecithinase	-
过氧化氢酶 Catalase	+
氧化酶 Oxidase	+
尿素酶 Urease	+
血浆凝固酶 Coagulase	+

注:“+”表示阳性反应;“-”表示阴性反应。

Note:“+” means positive reaction;“-” means negative reaction.

经过纯化的细菌培养物分别与标准阳性血清进行平板凝集试验,结果表明,1 型占 14.1% (12/85)、3 型占 8.2% (7/85)、7 型占 1.2% (1/85)、8 型占 5.9% (5/85)、9 型占 7.1% (6/85)、10 型占 24.7% (21/85)、12 型占 10.6% (9/85) 和 15 型占 3.5% (3/85),未定型 24.7% (21/85)。

2.2 APP 药敏试验

根据抑菌圈直径大小判定是否耐药,其中抑菌圈 ≤ 11 mm 判定为耐药 (R),抑菌圈 ≥ 15 mm 判定为敏感 (S),抑菌圈 12~14 mm 判定为中介 (I)。85 株试验菌株对大观霉素和链霉素的耐药率较高,分别为 68.2% 和 60.0%,其次是卡那霉素 (57.6%)、庆大霉素 (55.3%)、新霉素 (45.9%)、安普霉素 (43.5%)、小诺霉素 (37.6%) (表 2)。

表 2 85 株 APP 对氨基糖苷类抗生素的抑菌圈直径

Tab. 2 The diameter of inhibition zone of 85 strains of APP against aminoglycoside antibiotics

mm

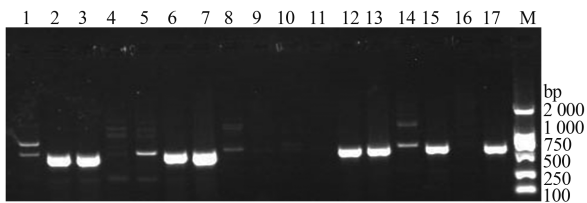
菌株编号 Strain number	链霉素 Streptomycin	卡那霉素 Kanamycin	庆大霉素 Gentamicin	新霉素 Neomycin	大观霉素 Spectinomycin	安普霉素 Apramycin	小诺霉素 Micronomicin
1	3.12	5.32	4.44	5.32	5.61	18.03	18.63
2	4.98	23.64	19.52	18.52	17.63	4.32	4.26
3	21.70	3.89	5.21	4.18	6.32	16.45	19.05
4	5.17	21.22	21.08	5.28	18.91	5.51	5.09
5	5.23	4.33	6.31	3.21	4.18	4.98	4.88
6	22.31	20.36	20.05	19.67	20.13	19.28	17.52
7	6.23	4.52	2.28	2.38	5.27	6.01	5.25
8	2.28	19.85	5.46	20.18	17.52	5.82	3.59
9	19.70	3.85	3.92	3.37	18.06	16.74	18.92
10	5.02	20.15	21.34	4.29	4.62	4.93	4.71
11	22.42	5.71	4.67	4.56	20.01	5.71	17.96
12	2.28	21.65	19.28	21.35	5.38	18.63	5.65
13	6.08	4.62	5.82	5.21	19.86	4.63	6.03
14	21.37	19.82	21.22	19.27	20.03	5.82	19.63
15	2.13	3.33	20.19	3.79	4.11	19.03	4.49
16	18.62	21.82	3.64	3.34	17.65	6.03	18.64
17	3.39	3.58	21.17	20.09	17.03	18.76	5.57
18	5.12	19.87	5.19	4.57	4.56	4.34	4.69
19	19.51	6.31	20.34	21.80	18.06	17.82	17.81
20	5.07	21.32	5.28	5.56	19.80	4.28	5.82
21	2.22	22.85	20.82	19.52	5.89	5.64	4.97
22	20.34	5.09	6.37	21.71	18.46	17.29	18.66
23	5.23	21.63	20.73	4.59	17.53	5.02	5.65
24	21.08	4.75	5.29	20.34	5.46	19.57	4.28
25	3.32	20.55	21.76	19.27	18.96	4.72	19.02
26	20.36	6.20	4.51	3.64	16.82	5.29	5.29
27	5.31	19.88	19.28	19.84	6.11	18.86	4.85
28	19.87	5.27	5.67	20.92	17.46	4.67	18.84
29	5.06	20.33	19.61	5.27	18.55	18.72	5.29
30	1.35	3.35	5.50	21.85	6.03	5.73	6.03
31	22.45	21.53	20.71	20.37	19.82	19.64	18.63
32	2.39	2.29	6.34	6.34	18.37	4.95	5.28
33	21.39	22.61	21.53	21.16	5.09	18.73	4.46

续表 2 85 株 APP 对氨基糖苷类抗生素的抑菌圈直径  
 Tab. 2(Continued) The diameter of inhibition zone of 85 strains of APP against aminoglycoside antibiotics mm

菌株编号 Strain number	链霉素 Streptomycin	卡那霉素 Kanamycin	庆大霉素 Gentamicin	新霉素 Neomycin	大观霉素 Spectinomycin	安普霉素 Apramycin	小诺霉素 Micronomicin
34	4.01	3.16	7.42	5.72	18.06	5.29	17.64
35	20.37	20.39	22.09	20.37	19.03	4.37	5.85
36	3.06	4.55	6.21	5.24	4.06	17.35	5.23
37	2.28	19.84	21.73	21.50	18.51	5.29	19.08
38	23.14	2.62	5.09	3.27	17.63	4.92	5.78
39	2.35	20.62	20.57	19.62	3.08	18.82	5.64
40	20.01	22.50	3.09	5.20	19.87	5.33	18.63
41	19.86	3.82	20.83	19.82	18.52	5.26	4.25
42	3.09	21.28	21.09	5.73	2.08	17.09	6.38
43	3.32	22.35	5.34	20.33	20.33	4.95	17.89
44	18.73	4.75	20.46	21.53	16.58	19.63	5.07
45	4.01	22.65	21.43	5.08	17.54	5.39	19.35
46	20.13	5.38	2.24	22.65	4.28	4.85	4.34
47	2.29	20.74	19.86	21.82	19.80	17.52	5.06
48	2.57	4.31	6.32	6.09	17.65	5.39	18.68
49	21.89	21.59	22.05	22.03	4.75	4.85	4.52
50	3.32	5.26	3.38	5.27	18.73	18.53	5.63
51	3.19	22.51	21.30	3.72	17.92	17.69	17.65
52	22.82	6.39	2.29	21.65	5.81	5.39	5.28
53	5.17	20.37	19.61	4.39	18.53	19.21	4.76
54	21.35	21.56	4.67	20.35	17.46	5.48	19.28
55	4.35	5.03	20.06	5.09	18.55	19.52	5.03
56	20.91	22.74	6.38	19.62	19.63	18.67	18.46
57	3.35	4.15	19.04	3.73	4.82	4.65	4.82
58	4.31	23.38	5.56	18.64	18.46	4.29	5.92
59	19.28	3.97	20.48	20.56	19.82	18.34	17.58
60	4.21	22.91	6.31	3.91	6.72	5.82	6.07
61	3.24	4.88	21.03	21.35	17.44	18.64	18.67
62	21.83	21.26	5.37	20.67	18.52	18.62	4.94
63	21.71	5.22	4.07	4.29	5.29	4.26	19.36
64	3.33	19.88	20.06	19.73	21.03	5.64	5.16
65	5.12	4.06	5.28	20.35	20.46	19.62	19.06
66	20.35	19.51	19.65	4.72	5.33	5.02	4.37
67	4.17	3.29	5.34	20.64	17.73	17.96	5.06
68	22.92	20.18	20.45	19.52	19.05	18.72	18.74
69	6.12	20.74	4.76	5.49	4.06	5.92	4.94
70	2.56	5.08	3.08	20.73	18.51	5.18	5.37
71	2.28	20.34	5.64	19.34	16.85	19.62	19.06
72	20.82	3.77	21.06	6.71	18.22	4.09	4.92
73	3.16	20.85	5.21	20.52	4.25	18.25	18.05
74	3.32	4.21	5.49	4.38	19.63	5.23	5.67
75	21.71	20.31	19.25	19.65	17.37	4.39	18.54
76	5.24	19.82	3.64	3.29	18.92	19.36	4.88
77	21.29	5.09	5.57	20.34	17.57	5.92	5.99
78	2.28	18.71	5.97	21.46	5.83	18.63	17.64
79	4.28	21.08	20.19	3.24	18.63	17.88	5.39
80	20.81	22.31	5.70	19.64	19.82	4.54	4.67
81	5.06	19.82	6.19	20.16	18.26	5.62	19.07
82	21.57	20.24	4.31	5.75	19.64	19.29	5.21
83	6.28	19.26	19.34	19.25	18.88	4.82	6.09
84	3.45	21.40	3.09	4.28	5.25	18.72	4.29
85	22.35	20.38	5.28	21.44	19.52	5.59	18.22

### 2.3 APP 对氨基糖苷类抗生素耐药基因的检测结果

采用 PCR 方法对氨基糖苷类抗生素药物耐药基因(*ant2- I a*、*aac3- II c*、*aac3- IV*)进行了检测。85 株放线杆菌的 *aac3- II c* 基因检出 49 株,阳性率为 57.6%,*aac3- IV* 基因检出 69 株,阳性率为 81.2%,未检测出 *ant2- I a* 基因。部分检测结果的电泳图谱见图 1 和图 2。

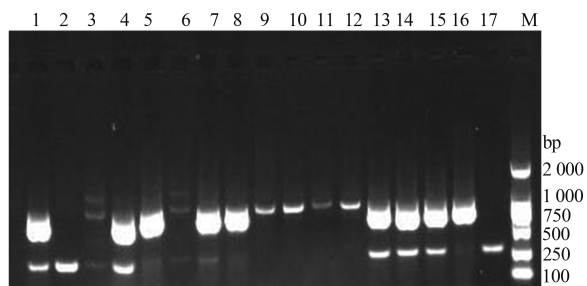


M 为 DL2000 Marker;1—17 为扩增的 PCR 产物

M is DL2000 Marker;1—17 are PCR amplification products

图 1 *aac3- II c* 基因检测结果

Fig. 1 *aac3- II c* gene detection results



M 为 DL2000 Marker;1—17 为扩增的 PCR 产物

M is DL2000 Marker;1—17 are PCR amplification products

图 2 *aac3- IV* 基因检测结果

Fig. 2 *aac3- IV* gene detection results

## 3 结论与讨论

氨基糖苷类药物是临床常用的一类治疗药物,在养猪生产中被广泛应用,有的超量使用,造成细菌耐药性增强<sup>[12-13]</sup>。APP 分为 2 个生物类型,生物 I 型和生物 II 型,生物 I 型毒力强,危害性大<sup>[14]</sup>。生物 II 型中含有 2 个血清型(13、14),主要分布于欧洲,其致病性比生物 I 型要弱<sup>[15]</sup>。生物 I 型中含有 13 个血清型(1—13),其中血清 5 型又可分为 2 个亚型 5a 和 5b<sup>[16-17]</sup>。血清型 1、9 和 11,3、6 和 8,4 和 7 含有共同的脂多糖(LPS)抗原<sup>[18]</sup>。在不同地方和地区,其流行的血清型也不同,如欧洲为血清型 2、3 和 9;而北美地区的流行血清型为 1、5 和 7。台湾主要是血清型 1 和 5。韩国主要是血清型 2、3、4、5。日本主要为血清型 2 和 5;我国主要是血清型 1、5 和 7。

APP 疫苗的保护作用取决于其质量和免疫方

法。目前已研制出胸膜肺炎灭活苗和亚单位苗。APP 的血清型较多,至少 15 个,但互相之间的交叉免疫能力差,各血清型之间交叉保护性不强<sup>[19]</sup>。当猪对 APP 某血清型的抗体一旦形成,再次接种其他血清型菌苗,则产生的抗体滴度很低<sup>[20]</sup>。感染 APP 后,经过抗生素治疗的猪常常持续带菌,严重威胁着其他健康猪只,成为其他猪的传染源。对发病的猪场,早期及时治疗是提高疗效的重要条件,需依据药敏试验结果和现场药物使用情况确定具体药物。

本研究分离的 85 株 APP 对氨基糖苷类药物产生了耐药性,APP 对氨基糖苷类抗生素药物耐药基因(*aac3- II c*)和(*aac3- IV*)的耐药率分别为 57.6%(49/85)、81.2%(69/85);未检测出 *ant2- I a* 耐药基因。对 APP 防治的重点在于搞好猪舍的日常环境卫生,采用全进全出的饲养方式,加强饲养管理,创造良好的环境,减少各种应激因素。保证全价优质的饲料,清洁的饮水。良好的通风,合理的饲养密度,定期清理粪便、污水等污物,清洁干燥的圈舍,以净化空气。坚持抗体检测,淘汰阳性猪,净化猪群。

### 参考文献:

- [1] BUJOLD A R, SHURE A E, LIU R, *et al.* Investigation of putative invasion determinants of *Actinobacillus* species using comparative genomics [J]. *Genomics*, 2019, 111 (1):59-66.
- [2] MAKRA L, SARKOZ R, FODOR L. CARBON source utilisation and evaluation of the biolog system in the identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* [J]. *Acta Vet Hung*, 2019, 67(3):327-337.
- [3] PAPATSIROS V, TZIKA E, ATHANASIOU L, *et al.* *In vivo* effectiveness of injectable antibiotics on the recovery of acute *Actinobacillus pleuropneumoniae* infected pigs [J]. *Microb Drug Resist*, 2019, 25(4):603-610.
- [4] TESHIMA K, HIRANO H, USHIYAMA K, *et al.* Isolation and characterization of atypical *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 15 lacking the *apx II CA* genes in Japan [J]. *J Vet Med, Sci* 2019, 81(3):480-485.
- [5] UCHIDA-FUJII E, NIWA H, KINOSHITA Y, *et al.* *Actinobacillus* species isolated from Japanese Thoroughbred racehorses in the last two decades [J]. *J Vet Med Sci*, 2019, 81(9):1234-1237.
- [6] XIONG J, ZHU Q, YANG S, *et al.* Comparison of pharmacokinetics of tilmicosin in healthy pigs and pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae* [J]. *N Z Vet J*, 2019, 67(5):257-263.
- [7] WU H C, YE H P, HSUEH K J, *et al.* Recombinant Apx IV protein enhances protective efficacy against *Actinoba-*

- cillus pleuropneumoniae* in mice and pigs[J]. J Appl Microbiol 2018, 124(6):1366-1376.
- [8] TO H, TESHIMA K, NAGAI S, et al. Characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* field strains antigenically related to the 3-6-8-15 group from diseased pigs in Japan and Argentina[J]. Rev Argent Microbiol, 2018, 50(1):12-22.
- [9] SARKOZI R, MAKRAI L, FODOR L. *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes in Hungary[J]. Acta Vet Hung, 2018, 66(3):343-349.
- [10] QUAN K, ZHU Z, CAO S, et al. *Escherichia coli*-derived outer membrane vesicles deliver galactose-1-phosphate uridylyltransferase and yield partial protection against *Actinobacillus pleuropneumoniae* in mice [J]. J Microbiol Biotechnol, 2018, 28(12):2095-2105.
- [11] LI Y, LI Y, FERNANDEZ CRESPO R, et al. Characterization of the *Actinobacillus pleuropneumoniae* SXT-related integrative and conjugative element ICEAp12 and analysis of the encoded FloR protein; Hydrophobic residues in transmembrane domains contribute dynamically to florfenicol and chloramphenicol efflux [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(1):57-65.
- [12] LI S, SU Z, ZHANG C, et al. Identification of drug target candidates of the swine pathogen *Actinobacillus pleuropneumoniae* by construction of protein-protein interaction network[J]. Genes Genomics, 2018, 40(8):847-856.
- [13] JIANG H, ZHU R, LIU H, et al. Transcriptomic analysis of porcine PBMCs in response to *Actinobacillus pleuropneumoniae* reveals the dynamic changes of differentially expressed genes related to immuno-inflammatory responses [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2018, 111(12):2371-2384.
- [14] HERNANDEZ REYES Y, PROVOST C, TRAESEL C K, et al. *Actinobacillus pleuropneumoniae* culture supernatant antiviral effect against porcine reproductive and respiratory syndrome virus occurs prior to the viral genome replication and transcription through actin depolymerization [J]. J Med Microbiol, 2018, 67(2):249-264.
- [15] HATHROUBI S, LOERA-MURO A, GUERRERO-BARRERA A L, et al. *Actinobacillus pleuropneumoniae* biofilms; Role in pathogenicity and potential impact for vaccination development [J]. Anim Health Res Rev, 2018, 19(1):17-30.
- [16] BIRHANU B T, LEE S J, PARK N H, et al. In silico analysis of putative drug and vaccine targets of the metabolic pathways of *Actinobacillus pleuropneumoniae* using a subtractive/comparative genomics approach [J]. J Vet Sci, 2018, 19(2):188-199.
- [17] ZHU Z, ZHAO Q, ZHAO Y, et al. Polyamine-binding protein PotD2 is required for stress tolerance and virulence in *Actinobacillus pleuropneumoniae* [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2017, 110(12):1647-1657.
- [18] TREMBLAY Y D N, LABRIE J, CHENIER S, et al. *Actinobacillus pleuropneumoniae* grows as aggregates in the lung of pigs; Is it time to refine our *in vitro* biofilm assays [J]. Microb Biotechnol, 2017, 10(4):756-760.
- [19] TESHIMA K, LEE J, TO H, et al. Application of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 15 in pig sera [J]. J Vet Med Sci, 2017, 79(12):1968-1972.
- [20] LIU J F, MA Q Y, ZHU R N, et al. An anti-propionibacterium acnes antibody shows heterologous resistance to an *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection independent of neutrophils in mice [J]. Immunol Res, 2017, 65(6):1124-1129.